الفصل الثالث

وراثة الأحياء الدقيقة
Microbial genetics

لقد حيرت وراثة الصفات في الكائنات الحية العلماء والباحثين لفترة طويلة من الزمن حتى منتصف القرن التاسع عشر الميلادي حينما جاء العالم جريجر مندل Gregor Johann Mendel الذي عاش في الفترة من ١٨٢٢- ١٨٨٤م، حيث تمكن في عام ١٨٥٦م من إجراء تجارب على نبات البازلاء فسَّر من خلالها بعض المبادئ الأساسية في توارث النباتات، وتمكن مندل خلال تجاربه التطبيقية العديدة من وضع أساس علم الوراثة الحديثة. اشتقت كلمة وراثة Genetics، من الأصل اللاتيني Gen، ومعناه (صار) أو (تحول). ويُعرَّف علم الوراثة بأنه أحد فروع علم الأحياء Biology المعنيِّ بدراسة الأسباب التي يرجع إليها التشابه والتباين بين أفراد النوع الواحد للكائنات الحية، أي أنه يبحث ويوضح كيفية انتقال الصفات الوراثية في المخلوقات الحية من الآباء إلى الأبناء، ومن ثم من جيل إلى آخر. افترض مندل Mendel أن كل صفة وراثية مسئول عنها عامل وراثي محدد يوجد في المشيج، وتنتقل العوامل الوراثية من جيل إلى آخر عن طريق هذه الأمشاج. ولم يستطع مندل Mendel تحديد أماكن هذه العوامل

obeikandl.com

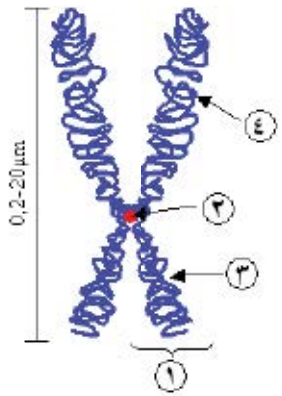
الوراثية في الخلايا؛ وذلك لعدم تقدم العلم بدرجة كافية في عصره، وخاصة في الدراسات الخلوية Cytology studies أي على مستوى الخلية.

ويعتبر علم الوراثة من بين العلوم الحديثة، حيث ترجع بدايته الفعلية منذ مطلع القرن العشرين الميلادي. وفي السنوات الأخيرة شهد علم الوراثة من التقدم ما لم تشهده علوم أخرى، حتى أصبح في وقتنا الحاضر متعدد المجالات، بل وصل إلى أن أصبح كل مجال أو فرع من فروعه يكاد أن يرقى لأن يكون علماً مستقلاً بحد ذاته. ومجالات علم الوراثة شملت كل ما هو متعلق بالحياة، فأصبح يبحث في تراكيب ووظيفة المادة الحية، وكيفية تكاثرها وقيامها بوظائفها، وكيفية تغيرها تلقائياً وصناعياً. ومن مجالات علم الوراثة: الوراثة الخلوية، والوراثة المندلية، والوراثة البيوكيميائية، والوراثة التكوينية، والوراثة العشائرية، والوراثة الكمية، والوراثة الإشعاعية، والوراثة الجزيئية، ووراثة الإنسان، والوراثة البيئية، والوراثة الفسيولوجية، والوراثة التطبيقية، والوراثة الإحصائية، ووراثة علم الحيوان، ووراثة علم النبات، والهندسة الوراثية، والوراثة النووية، والوراثة اللانووية، ووراثة الكائنات الدقيقة.

(٣,١) الجين Genes

مع تطور العلم وصناعة المجاهر والدراسات الخلوية توصل العلماء في أوائل القرن العشرين الميلادي -ومنهم العالم مورجان- في عام ١٩١٩م إلى أن العوامل الوراثية موجودة في الكروموسومات Chromosomes وسميت بالمورثات أو بالجينات Genes. أي أن الجين جزء معين من جزيء الحَمض النووي Deoxyribonucleic DNA acid أي الحَمض النووي الرايبوزي منقوص الأكسجين، وهو الوحدة الأساسية للوراثة. فالجين مقطع من الحَمض النووي DNA تترتب فيه القواعد النيتروجينية ترتيباً يحدد تسلسل الأحماض الأمينية في سلسلة ببتيدية واحدة Single polypeptide chain

وذلك بواسطة عمليتي نقل الشفرة Transcription، وترجمة الشفرة Translation. مر معنا في الفصل الثاني من هذا الكتاب أن الكروموسوم (الشكل رقم ٣,١) يتركب كيميائيًّا من الحَمض النووي DNA بالإضافة إلى بروتين الهيستون Histones، أما الجين فيتركب من مادة DNA فقط. في عام ١٩٤١م نشر العالمان بيدل وتاتم Beadle & Tatum نتائج دراستهما التي أجرياها على الفُطر *Neurospora sp.* والتي عَرَّضَاه فيها للأشعة السينية X-ray irradiation التي تسببت بتكوين طفرة Mutation في هذا الفُطر وإنتاج سلالة تختلف في خصائصها الفسيولوجية عن الأصل، وحصلا على جائزة نوبل على هذا الاكتشاف. وقد استنتج هذان العالمان تحكم الجينات في النشاط الأنزيمي للكائنات الحية الدقيقة، حيث أدخلا تعبير جين واحد لكل أنزيم واحد One gene one enzyme للدلالة على أن هناك جيناً واحداً يتحكم في أنزيم واحد. ومع تطور العلم وتقدمه تمكن العلماء من معرفة أن بعض الأنزيمات تتكون من أكثر من سلسلة ببتيدية واحدة، كما أن السلاسل الببتيدية في نفس الأنزيم قد تكون ذات ترتيب مختلف في أحماضها الأمينية. وأدَّى ذلك إلى تطوير مفهوم بيدل وتاتم Beadle & Tatum ليكون: جينٌ واحدٌ لسلسلة ببتيدية واحدة.



الكروماتيد (١)، والسينترومير (٢)، والذراع القصير للكروماتيد (٣)، والذراع الطويل للكروماتيد (٤).
الشكل رقم (٣,١). مخطط للكروموسوم.

ثم في عام ١٩٥٣م تم تصعيد دراسة الوراثة إلى المستوى الجزيئي عندما توصل العالمان واتسون وكريك Watson & Crick إلى طبيعة البنيان الجزيئي (تركيب جزيء الحَمض النووي DNA)، وقدما تصورهما إلى البناء الفراغي لجزيئات DNA. وحازا بهذا الاكتشاف على جائزة نوبل في العلوم عام ١٩٦٢م تكريماً لجهودهما التي فتحت آفاقاً واسعةً أمام الباحثين لمتابعة الدراسة والبحث في مجال علم الوراثة. والأهمية الكبيرة لهذا الاكتشاف أنه يفسر بوضوح حدوث كلٍ من تضاعف جزيئات DNA، وكذلك ميكانيكية حدوث الطفرات. وأوضح العالمان واتسون وكريك أن الحَمض النووي DNA يتركب من جزيئات صغيرة يعرف كل منها بالنيوكليوتيد Nucleotid، وأن النيوكليوتيد يتكون من ثلاثة عناصر هي:

١- مجموعة فوسفات مؤلفة من ذرة فسفور وأربع ذرات أكسجين (H_3PO_4).

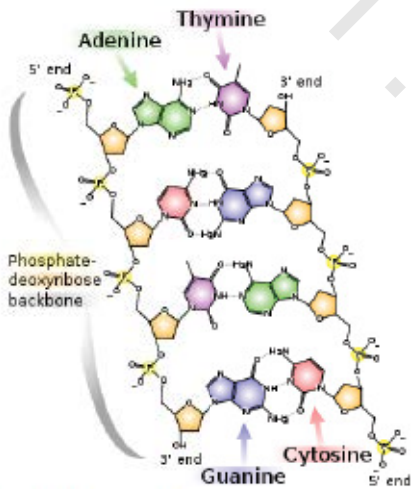
٢- سكر خماسي الكربون يسمى Deoxyribose، أي سكر الرايبوز منقوص الأكسجين.

٣- قاعدة نيتروجينية واحدة من إحدى الأربع قواعد الآتية: الأدينين Adenine (A)، والثايمين Thymine (T)، والجوانين Guanine (G)، والسايتوسين Cytosine (C).

ترتبط النيوكليوتيدات مع بعضها على شكل خيط أو سلسلة طويلة، والحَمض النووي DNA يتكون من خيطين أو شريطين من النيوكليوتيدات ملتفين حول بعضهما ومرتبطين مع بعضهما بواسطة روابط هيدروجينية بين القواعد النيتروجينية المتقابلة؛ ولذا يظهر الحَمض النووي DNA على شكل سلم لولبي أو حلزوني مزدوج، يحتوي على ملايين النيوكليوتيدات، ويعرف تعاقب القاعدة النيتروجينية على امتداد السلم في الحَمض النووي DNA بالشفرة الوراثية Genetic code؛ وذلك لأن تركيب الـ DNA (الجين) وترتيب النيوكليوتيدات فيه هو أساس عملية الوراثة. وبما أن هناك أنواعاً كثيرةً من الجينات؛ فإن كل جين يكون له ترتيب معين من النيوكليوتيدات في جزيء

الـDNA، أي أن لكل جين ترتيب معين من أزواج القواعد النيتروجينية، وكل جين يشغل منطقة ثابتة ومحددة. وبشكل عام نجد أن الجينات في خلايا الكائنات الحية الدقيقة تختلف فيما بينها في واحدٍ أو أكثر من العناصر الآتية: عدد النيوكليوتيدات، ونوع النيوكليوتيدات، وترتيب النيوكليوتيدات.

إن عدد الجينات (المورثات) يختلف في خلايا الكائنات الحية الدقيقة على حسب اختلاف عدد الكروموسومات فيها، وحجم هذه الكروموسومات أيضاً. ويبلغ حجم الجين الواحد بين ٥٠٠- ١٥٠٠ زوج قاعدي، ويفصل كل جين عن الآخر عدد قليل من النيوكليوتيدات. يكون ترابط القواعد النيتروجينية في النيوكليوتيد متخصصاً جداً؛ وذلك لأن الأدينين يرتبط دائماً مع الثايمين بروابط هيدروجينية ثنائية (A=T)، بينما يرتبط السيتوسين مع الجوانين بثلاثة روابط هيدروجينية (C≡G) كما في الشكل رقم (٣,٢). ولذلك فإنه بمجرد معرفة تتابع القواعد النيتروجينية في أحد خيطي الـ DNA يمكن معرفة تتابع القواعد النيتروجينية في الخيط الثاني. ولهذا يقال إن خيطي الحَمض النووي DNA في الحلزون المزدوج مكملان لبعضهما، وليسا متشابهين.



الشكل رقم (٣,٢). ترابط القواعد النيتروجينية في النيوكليوتيد.

(٣,٢) عملية النسخ Transcription

إن ما يعرف بالعبور الوراثي Gene Expression في خلايا الكائنات الحية الدقيقة يتم في خطوتين أساسيتين هما عملية النسخ transcription وهذه تكون في النواة، وعملية الترجمة translation التي تتم في سيتوبلازم الخلية. حيث تتم عملية النسخ بواسطة استخدام الحَمض النووي DNA كقالب حامل للمعلومات الوراثية ليتم نقلها، أي نسخها، إلى الحَمض النووي RNA. تتألف عملية النسخ من ثلاث خطوات رئيسة هي كما يأتي :

- الابتداء Initiation.
- الاستطالة Elongation.
- الإنهاء Termination.

تبدأ عملية الابتداء Initiation بارتباط مجموعة من البروتينات، تدعى عوامل النسخ transcription factors بمنطقة مخصصة توجد دائماً فيما يعرف بمجرى الجين up stream the gene، تسمى المستبدئ promoter. وهي سلسلة من النيوكليوتيدات تتعرف عليها العوامل المحفزة للعملية، وترتبط بها، ومن ثم تقوم هذه العوامل باستدعاء invite الأنزيم المناسب من مجموعة أنزيمات البلمرة RNA polymerases. حيث يوجد لكل نوع من أنواع الحَمض النووي RNA المراد تصنيعه أنزيم مخصص له، بمعنى أن هناك ثلاثة : rRNA– polymerases, mRNA- polymerases, tRNA– polymerases. وبعد أن تتم عملية ارتباط العوامل المحفزة بالأنزيم الملائم يتكون ما يعرف بمعقد عملية النسخ transcription complex في المنطقة المخصصة بالجين site promoter، ثم يسير الأنزيم نحو نقطة محددة للبدء. هذه النقطة يرمز لها بالرمز +١ ، ومن هنا بالتحديد تبدأ عملية النسخ. حيث يقوم الأنزيم RNA polymerase بتفكيك السلسلتين الحلزونيتين

obeikandl.com

DNA double helix، وفي نفس الأثناء تتم عملية الاستطالة Elongation، وذلك بإضافة النيوكليوتيدات الجديدة، أي تكوين سلسلة الـ RNA الجديدة بحيث تكون مكملة لواحدة فقط من سلسلتي الـ DNA المتفككة، وهو ما يسمى بالـ template=non coding strand.

تنتهي العملية عندما يصادف الأنزيم شفرة الإنهاء على سلسلة الـ DNA، وهي إحدى ثلاث شفرات: UGA, UAA, UAG. هنا تنتهي عملية النسخ (الخطوة الأولى من العبور الوراثي) وينتج عنها تكون سلسلة أحادية النيوكليوتيدات RNA ، التي تنتقل من النواة إلى السيتوبلازم للقيام بمهمتها في الخطوة الثانية وهي الترجمة TRANSLATION.

يتم تخليق شريط جزيء RNA أمام أحد شريطي جزيء DNA؛ وذلك من الوحدات البنائية الموجودة بالخلية، وهذا ما يعرف "بعملية النسخ Transcription". إن تتابع الدي أوكسي نيوكليوتيدات في شريط الحَمض النووي DNA هو الذي يتحكم في تتابع النيوكليوتيدات عند بناء شريط حَمض RNA. ويلاحظ أنه عند موقع وجود الثايمين (T) على شريط DNA يتم وضع أدنين (A) في شريط RNA. وعند وجود الأدنين (A) على شريط DNA يتم وضع يوراسيل (U) في شريط RNA. وعند وجود سيتوسين c على شريط DNA يتم وضع جوانين في شريط RNA. وعند وجود جوانين (G) على شريط DNA يتم وضع سيتوسين (C) في شريط RNA. وبعد تمام تخليق شريط حَمض RNA ينفصل عن شريط حَمض DNA.

ويدرك العلماء أن الجينات في أي خلية ليست كلها نشطة في جميع الأوقات، فقد تنشط بعض الجينات فترة ما ثم تدخل في مرحلة عدم النشاط. والجين عند نشاطه يتم نسخه إلى حَمض RNA، وعلى ذلك فإن حَمض DNA في نواة الخلية لا يتم نسخه

باستمرار، ولكن فقط أجزاء منه هي التي تنسخ وذلك لبعض الوقت. إن شرائط حَمض RNA يتم تخليقها في النواة، ولكن هذه الشرائط تؤدي وظيفتها في السيتوبلازم.

وعند نسخ جزء من حَمض DNA فإن الشريط من حَمض DNA الذي سينسخ ينفك ارتباطه مع الشريط الآخر مؤقتاً إلى أن تنتهي عمليه نسخه ثم يعاود التفافه على الشريط الآخر لحَمض DNA كما كان الوضع قبل النسخ. ويطلق على عملية بناء سلسلة عديد الببتيد أمام جزيء RNA اسم ترجمة Translation، حيث يتم من خلالها ترجمة ترتيب القواعد النيتروجينية في جزيء m-RNA إلى ترتيب معين للأحماض الأمينيه. أي بناء تسلسل من الأحماض الأمينية يعتمد ترتيبه على ترتيب الشفرات في حَمض m- RNA.

(٣,٢,١) تنظيم عملية النسخ

تحتاج عملية النسخ إلى تكاثر أو تضاعف الحَمض النووي DNA، وهذه تحدث في فترة محدودة من الطور البيني في دورة حياة خلية الكائن الحي، وتعرف هذه الفترة بفترة البناء أو التضاعف. الحَمض النووي DNA يتضاعف في أثناء عملية الانقسام ويُكَوِّنُ نسخاً طبق الأصل لكي تنتقل إلى الخلايا الجديدة عن الانقسامات الخلوية. ويمكن تلخيص عملية تضاعف الحَمض النووي DNA في خطوتين أساسيتين:

(٣,٢,١,١) الخطوة الأولى التنظيم السلبي

أي عملية التفكيك أو التكسير للحَمض النووي DNA، وفيها يتم تكسير الروابط الهيدروجينية الضعيفة التي تربط بين القواعد النيتروجينية بين شريطي جزيء DNA بواسطة أنزيم خاص معروف يسمى أنزيم فك الحلزون أو اللولب DNA-

helicase، فتتحول إلى سلاسل أحادية بدءاً من نقطة محددة، وتبدأ عملية التفكيك أو الكسر هذه في أحد طرفي جزيء الحَمض النووي DNA حتى يتكون شريطان منفصلان عن بعضهما.

(٣,٢,١,٢) الخطوة الثانية التنظيم الإيجابي

وهو إعادة البناء، فترتبط النيوكليوتيدات الحرة في بروتوبلازم الخلية بالقواعد النيتروجينية في كل شريط، مشابهةً لتلك التي كانت متصلة معها في الجزيء الأصلي، وذلك بواسطة أنزيم البلمرة DNA-Polymerase حتى يتم إعادة تكوين النصف المفقود من الشريط الأصلي، وعلى سبيل المثال إذا كان هناك جزيء أدينين Adenine (A) حر على شريط DNA فمن الطبيعي أن يجذب إليه نيوكليوتيدة تملك جزيء ثايمين Thymine (T) ملتصق بها. وكذلك جزيء السايتوسين Cytosine (C) سيجذب إليه نيوكليوتيدة تملك جزيء جوانين Guanine (G)، وهكذا تستمر عملية إعادة بناء شريطَي جزيء الحَمض النووي DNA الأصلي، وبالتدريج يعيد كل شريطٍ القطع الناقصة فيه، وتكون النتيجة النهائية تكوين جزيئين من DNA متطابقين تماماً بينما كان في الأصل جزيئاً واحداً فقط.

(٣,٢,٢) آلية تضاعف الحَمض النووي DNA

تعتمد مقدرة خلايا الكائنات الحية في الحفاظ على درجة عالية من الدقة في الاستمرار في وظائفها من جيلٍ إلى آخر تعتمد على قدرتها على مضاعفة المعلومات الوراثية المخزونة في جزيء الـ DNA، المكون للكروموسوم، ويكون ذلك في الطور البيني قبيل عملية الانقسام وإنتاج خلايا جديدة. وهناك عدد من الشروط التي يجب أن

تتوفر حتى يتضاعف جزيء DNA ، منها وجود جزيء DNA الذي تلزم مضاعفته ليتم إنتاج جزيئات DNA جديدة تحمل نفس المعلومات الوراثية، ووجود كميات كافية من النيوكليوتيدات الأربعة المختلفة التي تدخل في تركيبة (A, G, C, T) ، بالإضافة إلى أنزيم التضاعف (أنزيم بلمرة DNA)، وبعض الأنزيمات و البروتينات الأخرى اللازمة لإتمام العملية. إن تركيب الشريط المزدوج ذي القواعد المتزاوجة لجزيء DNA يحتوي على وسيلة يمكن بها مضاعفة المعلومات الوراثية بدقة، ولأن الشريطين يحتويان على قواعد متكاملة ؛ فإن تتابع النيوكليوتيدات في كل شريط يوفر المعلومات اللازمة لإنتاج الشريط المقابل. ويتطلب نسخ DNA تكامل نشاط عدد من الأنزيمات والبروتينات في الخلية ، ولكي يتم النسخ يتعين حدوث ما يلي :

- تنفصل سلسلتا جزيء DNA بعضهما عن بعض بشكل تدريجي، نتيجة تكسّر الروابط الهيدروجينية التي تربط القواعد النيتروجينية ببعضها بواسطة أنزيمات فك الحلزون أو اللولب DNA-helicases، فتتحول إلى سلاسل أحادية بدءاً من نقطة محددة، وينشطر بشكل طولي حتى نهاية السلسلة.
- يرتبط أنزيم التضاعف (DNA-polymerase) بالسلسلة الأحادية، ويقوم بوضع النيوكليوتيدات- الموجودة في السائل النووي- الواحدة تلو الأخرى بشكل متمم حسب ترتيب القواعد النيتروجينية الموجودة في سلسلة جزيء DNA الذي يتضاعف بحيث يتم وضع نيوكليوتيد T مقابل نيوكليوتيد A، ونيوكليوتيد G مقابل نيوكليوتيد C، وتستمر هذه العملية بتحرك أنزيم التضاعف من نقطة البدء حتى نهاية السلسلة. وأنزيم البلمرة يعمل في اتجاه واحد فقط من الجانب ٥ في اتجاه ٣ للشريط الجديد الذي يجري بناؤه كما في الشكل رقم (٣,٣).

الشكل رقم (٣,٣). اتجاه حركة أنزيم التضاعف وأنزيم البلمرة.

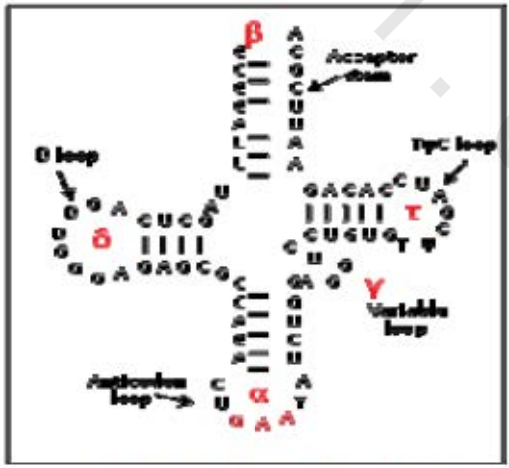
- تتم عمليتي تضاعف سلسلتي جزيء DNA في وقت واحد وبنفس السرعة، فينتج عن هذه العملية جزيئان كاملان من DNA، يحتوي كل منهما على سلسلة قديمة و أخرى جديدة.
- بعد الانتهاء من هذه العملية تقوم بروتينات الهستونات الأصلية والجديدة بالارتباط جميعها بجزيئي DNA، لتكوين الكروموسومات وتكثيفها داخل النواة.

تُترجم الشفرات الموجودة على DNA عن طريق تصنيع البروتينات التي تشمل البروتينات التركيبية Structural Proteins الداخلة في تركيب أنسجة الكائن الحي، والبروتينات التنظيمية Regulatory proteins التي تكون الأنزيمات والهرمونات وغيرها من المواد التي تنظم أنشطة الكائن الحي.

تبدأ عملية صنع البروتين باستخدام DNA و RNA في النواة، وكما يحدث في تضاعف DNA يتم فك شريطي DNA عن بعضهما بعد ارتباط أنزيم بلمرة RNA (RNA Polymerase) بتتابع النيوكليوتيدات على DNA، يسمى هذا التتابع للنيوكليوتيدات باسم المحفز Promoter. بعد ذلك ينفصل شريطا DNA عن بعضهما ليعمل أحدهما كقالب لبناء شريط RNA ويدل المستبدئ على شريط DNA الذي سيتم نسخه، وتسمى هذه العملية عملية النسخ Transcription. ويعمل أنزيم بلمرة RNA(RNA Polymerase) في الاتجاه من الطرف ٥ إلى الطرف ٣.

وما إن يتم بناء m RNA أو حَمض RNA الرسول حتى يصبح جاهزًا للترجمة، ويترك النواة إلى السيتوبلازم من خلال الغشاء النووي ليتم ترجمته إلى البروتين المقابل، ويوجد على بداية كل جزيء من شريط m RNA موقع للارتباط بالريبوسوم وهو تتابع للنيوكليوتيدات يرتبط بالريبوسوم بحيث يصبح أول Coding متجهاً لأعلى وهو الوضع الصحيح للترجمة. أما عند الطرف الآخر لـ m RNA فيوجد نهاية من عديد الأدنين (ذيل مكون من حوالي ٢٠٠ أدينوزين) وهذا الذيل هو الذي يحمي m RNA من الانحلال بواسطة الأنزيمات الموجودة في السيتوبلازم.

وتعرف عملية قراءة وترجمة الشفرة الموجودة على m RNA الذي تم بناؤه في عملية النسخ بعملية الترجمة Translation، وتبدأ عندما يخرج m RNA من النواة ليرتبط بالريبوسوم. والريبوسوم هو عُضَيَّةُ بناء البروتين في الخلية حيث يدخل في تركيبه نوع من RNA يسمى الريبوسومي r RNA، وحوالي ٧٠ نوعاً من عديد الببتيد، وفي حالة عدم بناء البروتين ينفصل كل منهما إلى تحت وحدتين، إحداهما كبيرة والأخرى صغيرة، وعندما تبدأ عملية البناء ترتبطان مرة أخرى، انظر الشكل رقم (٣,٤).



الشكل رقم (٣,٤). عملية الترجمة لبناء البروتين.

حيث يقوم الحَمض الناقل t RNA بنقل الأحماض الأمينية إلى الريبوسومات، ولكل حَمض أميني نوع خاص من t RNA يتعرف عليه وينقله، وينسخ t RNA من جينات t RNA التي توجد عادة على شكل تجمعات من ٧- ٨ جينات على نفس الجزء من DNA. ولكل جزيئات t RNA نفس الشكل العام حيث تلتف أجزاء من الجزيء لتكون حلقات تحتفظ بشكلها بازدواج القواعد في مناطق مختلفة من الجزيء.

الجدير بالذكر أن RNA هو شريط مفرد، لكن في حالة RNA الناقل فإن التفاف الشريط في بعض الأجزاء يجعلها مزدوجة أي أنه مازال شريطاً مفرداً، لكنه كوَّن حلقات في بعض الأماكن أدت إلى الازدواج فيها نتيجة لتلك الالتفافات. ويوجد موقعان على الجزيء لهما دور في بناء البروتين؛ الموقع الأول هو الذي يتحد فيه الجزيء بالحَمض الأميني الخاص به، ويتكون من ثلاث قواعد CCA عند الطرف ٣ من الجزيء؛ والموقع الآخر هو مقابل الكودون، وهو الذي تتزاوج قواعده مع كودونات m RNA المناسبة عند مركب m RNA والريبوسوم حيث يحدث ارتباط مؤقت بين t RNA و m RNA يسمح للحَمض الأميني المحمول على t RNA أن يدخل في سلسلة عديد الببتيد في المكان المحدد.

يبدأ صنع البروتين عندما ترتبط تحت وحدة ريبوسوم صغيرة بجزيء m RNA الذي أول كودون به هو AUG ويكون متجهاً لأعلى ثم تتزاوج قواعد مضاد الكودون لجزيء t RNA الخاص بالمثيونين مع كودون AUG، وبذلك يصبح المثيونين أول حَمض أميني في سلسة عديد الببتيد التي ستبنى، ثم ترتبط تحت وحدة ريبوسوم كبيرة بالمركب السابق، وعندئذ تبدأ تفاعلات بناء البروتين في الخلية.

كما يوجد على الريبوسوم موقعان يمكن أن ترتبط بهما جزيئات t RNA ونتيجة للأحداث السابقة فإن كودون البدء AUG يكون عند أحدهما، ويطلق على هذا الموقع

موقع الببتيديل Peptidyl، أما الموقع الآخر فيطلق عليه موقع الأمينواسيل amino-Acyl.

وتبدأ سلسلة عديد البتيد في الاستطالة في دورة تتكون من ثلاث خطوات كما يلي :

١- يرتبط مضاد كودون t RNA بالكودون التالي على جزيءm RNA ؛ وبذلك يصبح الحَمض الأميني الذي يحمله جزيء t RNA هو التالي في السلسلة.

٢- يحدث تفاعل نقل الببتيديل Peptidyl transferase reaction الذي ينتج عنه تكوين رابطة ببتيدية، والأنزيم الذي ينشط هذا التفاعل عبارة عن جزء من تحت وحدة الريبوسوم الكبيرة، وهذا الأنزيم يربط الحَمض الأميني الأول بالثاني برابطة ببتيدية، ونتيجة لذلك يصبح t RNA الأول فارغاً ويترك الريبوسوم، وقد يلتقط مثيونين آخر، أما t RNA الثاني فيحمل الحَمضين الأمينيين معاً.

٣- يتحرك الريبوسوم على امتداد m RNA وهذه العملية تأتي بالكودون التالي إلى موقع الببتيديل على الريبوسوم، ثم تبدأ الدورة مرة أخرى حيث يرتبط مضاد كودون على t RNA مناسب بكودون m RNA جالباً الحَمض الأميني الثالث إلى الموضع المناسب على موقع الأمينواسيل، وترتبط سلسلة عديد الببتيد النامية بالحَمض الأميني الجديد القادم على هذا الجزيء من t RNA الثالث ثم يتكرر التتابع.

وتقف عملية بناء البروتين في خلايا الكائنات الحية الدقيقة عندما يصل الريبوسوم إلى كودون وقف على m RNA، وهناك بروتين باسم عامل الإطلاق Release Factor يرتبط بكودون الوقف، مما يجعل الريبوسوم يترك m RNA وتنفصل وحدتا الريبوسوم عن بعضهما. وبتكرار العملية تتكون البروتينات اللازمة لأداء الوظائف الحيوية المختلفة لخلايا الكائنات الحية الدقيقة.

(٣,٣) التحفيز

تعد عملية النسخ Transcription عملية حيوية كيميائية حساسة جداً وانتقائية Selective تتأثر بالتحفيز Catalyzation ، وتؤثر في عملية بناء البروتين Protein synthesis. والبروتينات عبارة عن جزيئات كبيرة معقدة تُظهِر درجة عالية من التخصص الوظيفي، ونجد أن أغلب الجينات لها تأثير متخصص على الشكل الظاهري للكائن الحي من خلال البروتينات ذات التركيبات الخاصة (الأنزيمات والبروتينات التركيبية). فالتحفيز هو عملية تنشيط Activation الحَمض النووي DNA على نسخ RNA لبناء البروتين. إن البروتينات المتعددة في التركيب والخصائص تلعب أكثر من دور مهم في خلايا الكائنات الحية الدقيقة، فهي تشارك في معظم الوظائف الحيوية. فالأنزيم والهرمون هما جزيء بروتيني له تركيب فريد، حيث تدخل الأنزيمات كعوامل مساعدة في جميع التفاعلات الكيميائية في الخلايا الحية، وهي بروتينات، وعادة تحفز Catalyze تفاعلاً خاصاً واحداً، وكذلك الهرمونات التي تنظم العمليات الحيوية في كثير من الكائنات الحية الدقيقة هي في واقع الأمر بروتينات.

وكما ذكر سابقاً أن انتقال المعلومات الوراثية من DNA إلى RNA إلى البروتين أثناء التعبير المظهري في الكائنات الحية الدقيقة أو تخليق البروتين يتضمن كلاً من عملية النسخ transcription ، ويقصد بها انتقال المعلومات الوراثية من DNA إلى RNA ؛ وعملية الترجمة translation ، وهي انتقال المعلومات من RNA إلى البروتين في السيتوبلازم. توجد ثلاثة أنواع مختلفة من أنزيمات بلمرة RNA وهي: أنزيم بلمرة RNA polymerase I ، ويختص ببناء السلاسل الطويلة الخاصة بجزيئات الريبوسومي rRNA، وأنزيم بلمرة RNA polymerase I I ، ويختص بنسخ سلاسل جزيئات المرسال mRNA، وأنزيم بلمرة RNA polymerase I I I ، ويقوم ببناء عدد من سلاسل

RNA القصيرة مثل الناقل tRNA، والريبوسومي تقصير السلسلة (SrRNA ٥). الجدير بالذكر أن هذه الأنزيمات الثلاثة لا يمكنها أن ترتبط بمنطقة تتابع ابتداء النسخ Promoter إلا في وجود بعض البروتينات النوعية الموجودة بالفعل على جزيء DNA نفسه.

ولا يمكن لأنزيمات بلمرة RNA التعرف مباشرة على منطقة ابتداء النسخ إلاّ بعد ارتباط بروتينات نوعية مع تتابعات معينة في DNA القالب لتنشيط المستبدئ وتحفيزه على الدخول في عملية النسخ. يطلق على هذه البروتينات النوعية اسم عوامل النسخ Transcription factors (TF)، وهي ضرورية لبدء بناء RNA، وتتعرف كلٌ من الأنزيمات الثلاثة على المستبدئ Promoter، ويحتاج كلٌ منها إلى عوامل نسخ (TF) يختلف بعضها عن بعض، ويرمز لها بـ TF I, TF I I, TF I I I على الترتيب. يوجد عامل نسخ هام جداً لعدد كبير من تتابعات الابتداء Promoter لأنزيم RNA pol I I، وهو TF I I D الذي يتكون من معقد بروتيني كبير الحجم يطلق عليه عادة عامل TATA؛ لأنه يرتبط نوعياً بتتابع نوعي محفوظ غني في A-T يسمى صندوق (TATA box) يتمركز عند حوالي (−٢٥) قاعدة قبل موقع بدء النسخ (+١)، ويؤدي نشاط عامل النسخ TATA إلى تحفيز النشاط النسخي لأنزيم RNA pol I I.

(٣,٤) التثبيط

يقصد بالتثبيط هو عملية إعاقة Inhibition الحَمض النووي DNA من القيام بعملية نسخ RNA لبناء البروتين، أثناء ما يعرف بالعبور الوراثي Gene Expression في خلايا الكائنات الحية الدقيقة الذي يتم في خطوتين أساسيتين هما عملية النسخ transcription وهذه تكون في النواة، وعملية الترجمة translation التي تتم في سيتوبلازم الخلية. وتتكون البروتينات الصغيرة من ١٠٠ حامضٍ أمينيٍ أو أقل، أمَّا

البروتينات الكبيرة فتتكون من بضعة آلاف من الأحماض الأمينية. فالأحماض الأمينية Amino acids هي وحدات بناء البروتينات. والبروتينات هي بوليمراتٌ خَطِّيَّةٌ من الأحماض الأمينية لها تركيب موحَّدٌ يشمل مجموعة كربوكسيل (COOH) في الطرف الحامضي ومجموعة أمين (NH_2) في الشق القاعدي، وR هي رمز لإحدى المجموعات العشرين لوظيفته المختلفة، وهي في أبسط أشكالها عبارة عن H في الحامض الأميني الجلايسين أو سلسلة طويلة وأكثر تعقيدًا كما في الحَمض الأميني أرجنين والتربتوفان. تتأثر خواص البروتين بخواص الأحماض الأمينية المكونة له حيث كل حامض أميني فيه شقان، شق حامضي (مجموعة كربوكسيل)، وشق قاعدي (مجموعة أمين). ترتبط الأحماض الأمينية مع بعضها بروابط ببتيدية تربط مجموعة الأمين في أحد الأحماض الأمينية بمجموعة الكربوكسيل في حامض أميني آخر مع فقدان جزيء ماء، والعملية عكسية، وهي كسر هذه الرابطة بإضافة جزيء ماء وتعرف بالتحلل المائي.

هناك بعض البروتينات التي تتكون من سلسلتين من عديد الببتيد Polypeptide chains ملفوفتين إحداهما بالأخرى، أي من زوجين من السلاسل المتشابهة أو من أربع سلاسل مختلفة. البروتينات تكوِّن سلاسل طويلةً ومشدودةً من الأحماض الأمينية التي قد تلتف حول نفسها بطريقة خاصة. وتصنف البروتينات إلى مجموعتين حسب مقدار الثني في سلسلة عديد الببتيد، فهناك البروتينات الخيطية أو التركيبية Structural proteins؛ والبروتينات الكروية أو الديناميكية Dynamic proteins. وتبقى جزيئات البروتينات الخيطية محدودة ولا تنثني على نفسها، وجميع الأحماض الأمينية الموجودة في السلسلة مكشوفة وتشتمل على عددٍ كبيرٍ من المجاميع الجانبية التي لا تحمل شحنات ولا تكون مستقطبة. هذه المجموعات تُدعى المجموعات الكارهة للماء Hydrophobic؛ لأنها لا ترتبط بالماء، ولا تذوب في الماء أو المحاليل.

وعلى الرغم من وجود تتابعات محددة في مناشئ التناسخ في كل من البكتيريا والفيروسات، إلا أنه في الكائنات الحية حقيقية النواة لم تتحدد بعد تتابعات خاصة بمناشئ التناسخ ولو أنه توجد أدلة على أن تناسخ DNA يبدأ في مواقع محددة وثابتة على الكروموسومات في خلايا الثدييات. ولمعرفة تتابعات مناشئ التناسخ تم إجبار خلايا خميرة الطعام *Saccharomyces cerevisiae* على أخذ DNA غريب، ثم استخدم عدد من البلازميدات الكشافة (البلازميدات البكتيرية لا تستطيع التضاعف في الخميرة) وعند إضافة تتابعات معينة من DNA الخميرة إلى هذه البلازميدات استطاعت أن تتضاعف. يطلق على هذه التتابعات اسم تتابعات التناسخ الذاتي Autonomous Replication Sequences (ARSs). هذه التتابعات ARSs يمكن أن تزيد معدل التناسخ في المعمل *In vitro* باستخدام مستخلص الخميرة، أما في الخلية *In vivo* فإن عناصر ARSs أخرى في الجينوم تتناسخ في أوقات معينة أثناء طور S في الخميرة. وقد تبين أن ARSs المدخلة في البلازميد تتناسخ في نفس الوقت الذي يتم فيه تناسخ مثيلاتها الموجودة في الكروموسوم، ويعتقد أن ARSs هي المناشئ الحقيقية للتناسخ في الكروموسومات.

يلاحظ أن معدل النسخ لجين ما ليس ثابتاً باستمرار، بل وُجِدَ أنه يتغير حسب احتياجات خلية الكائن الحي تحت الظروف المختلفة من النمو، أي أنها عملية منظمة Regulated process. يتم في بكتيريا القولون *Escherichia coli* تنظيم النسخ عن طريق بعض البروتينات النوعية التي يؤدي ارتباطها بجزيء DNA بالقرب من المستبدئ Promoter أو داخله إلى زيادةٍ أو انخفاضٍ في معدل البناء لأنزيم بلمرة RNA.

تشمل هذه البروتينات المنظمة المثبطات Repressors التي تقوم بإيقاف أو منع الارتباط بين أنزيم بلمرة RNA مع تتابع الابتداء، ومن ثم توقف عملية النسخ، كما

تشمل المنشطات Activators التي ترتبط بأنزيم بلمرة RNA وتحفز نشاطه. وقد وُجِدَ أن المستبدئ الذي يحتاج إلى منشطات لكي يعمل بكفاءة أكبر يكون فيه التتابع المحفوظ Consensus sequence في النقطة (-٣٥) غير متطابق أو غير متشابه مع التتابع النموذجي؛ مما يعني أن المنشط يعمل كبديل لتعويض النقص الوظيفي لهذا الجزء من موقع الارتباط.

والجدير بالذكر أنه يمكن أن يعمل بروتينٌ ما من بروتينات خلايا الكائنات الحية الدقيقة كمثبط لمستبدئ معين تحت ظروف تفاعلية محددة، في حين قد يقوم هذا البروتين نفسه بدور المنشط لمستبدئ آخر، والعكس صحيح، ويتوقف ذلك على الموقع الدقيق لنقطة ارتباطه مع الحامض النووي.

(٣,٥) إحداث الطفرات في الكائنات الحية الدقيقة Microbial mutations

هناك تغيرات مؤقتة وأخرى دائمة تحدث عادة لخلايا الكائنات الحية الدقيقة، والفرق بينهما أن التغيرات المؤقتة لا يلاحظ معها أي تغير في خلايا الكائن الحي من حيث تراكيبها الظاهرية وأنشطتها البيوكيميائية. بينما التغيرات الدائمة ينتج عنها خلايا تختلف في بعض صفاتها عن صفات خلايا المزرعة الأم، مثل فقد القدرة على تخمر سكر معين، وفقد القدرة على تكوين سم في بعض الأنواع البكتيرية، أو مقاومة مضاد حيوي معين. ولقد ثبت أنه أثناء نمو المزرعة الميكروبية تتكون في خلايا بعضها صفات وراثية جديدة أو تغيرات وراثية تنقل من جيل لآخر، وإن كان نسبة تكونها قليلة جداً، حيث قد تصل إلى خلية واحدة لكل عشرة مليون خلية وهذا ما يعرف بالطفرة Mutation. فالطفرة يقصد بها أي تغير دائم في ترتيب القواعد النيتروجينية في الحَمض النووي DNA لأي جين أو جينات سواء أدى هذا التغير إلى تغير ملحوظ في الخواص

الظاهرية للكائن الحي أم لا ، وقد يكون هذا التغير ناتج عن الاستبدال أو الحذف أو الإضافة لقاعدة واحدة أو أكثر بين القواعد النيتروجينية للحَمض النووي DNA. ويرجع التغير في صفات خلية الكائن الحي إلى حدوث تغير في الطرز الجينية للخلية، ويتمثل في حدوث تغير في تراكيب مادة DNA في الجين، ويعرف هذا النمط من التغير بالتغير الوراثي أو التغير الجيني الذي يقود إلى التغير الشكلي. فإن تغيير تسلسل القواعد النيتروجينية في الحَمض النووي DNA قد ينتهي بتغيير تسلسل الأحماض الأمينية في السلسلة الببتيدية ؛ مما قد يؤدي إلى تغير في تركيب البروتين وينتج عن ذلك فقدٌ جزئي أو كلي في نشاط البروتين، وهو ما يكوِّن الطفرة في خلايا الكائنات الحية الدقيقة.

(٣,٥,١) طفرات العوز الغذائي

يحدث هذا النوع من الطفرات في خلايا الكائنات الحية الدقيقة التي تعيش في أوساط غذائية أو منابت تفتقر إلى بعض العناصر الغذائية التي يعتمد عليها الكائن الحي في نموه وتكاثره، ويسمى طفرات العوز الغذائي نسبة إلى فقر أو شح المزرعة الميكروبية بالمغذيات اللازمة في حياة الكائنات الحية الدقيقة. وعلى الرغم من قلة حدوث طفرات العوز الغذائي إلا أن بعض الباحثين لاحظوها ودرسوها ووجدوا أن ثمة أنشطة كيميائية حيوية Biochemical activities تتم بالخلية وتمكنها من الاستجابة للتغيرات التي تحدث في بيئتها. ومثل هذه التغيرات ترجع لحدوث تغير في بعض أنشطة الخلية ، وقد تسمى بالتغيرات المظهرية Phenotypic variations ، حيث قد تحدث تغيرات في النظام الأنزيمي لخلايا الكائن الحي بسبب التغيرات الحادثة في الظروف البيئية خصوصاً تلك التغيرات المتعلقة بالمتطلبات الغذائية لخلايا الكائن الحي. مع أن كثيراً من

هذه التغيرات لا تورَّث أي لا تنتقل من جيل لآخر؛ لذلك بعض العلماء لا يعتبرونها طفرة حقيقية.

فعلى سبيل المثال نجد أن بكتيريا اللبن *Lactobacillus casei* يحتاج نموها إلى إضافة فيتامين B٦، وذلك على وسط غذائي درجة حموضته متعادلة (pH ٧)، ولكن عند خفض درجة الحموضة إلى خمسة لا تحتاج إلى إضافة فيتامين B٦. كما وجد أن البكتيريا *Alcaligenes viscolactis* تكون خلايا مزرعتها خشنة Rough cells، أي عديمة العلبة Capsule لافتقارها للأنزيم المسئول عن بناء مكونات العلبة، وذلك عندما تعيش في وسطٍ درجة حرارته مرتفعة، على الرغم من نموها بصورة جديدة عند درجة الحرارة المرتفعة. بينما تتكون لها علبة وتكون خلايا مزرعتها ناعمة Smooth cells، وذلك عندما تعيش في وسط درجة حرارته منخفضة. كما وجد أن حجم الخلية يزداد لبعض أنواع الكائنات الحية الدقيقة مثل جنس Streptococcus، وذلك عند تنميتها في وسط غذائي به كمية قليلة من غاز ثاني أكسيد الكربون.

(٣,٥,٢) طفرات المقاومة

تعد طفرات المقاومة نوع أساس من أنواع الطفرات؛ لأن ما يحدث في خلايا الكائنات الحية من تغيرات جراء هذه الطفرة Mutation، هو تغير يورث وينتقل من جيل لآخر عبر النسل أو سلالات الأجيال المتتابعة. ومن نتائج طفرات المقاومة تكوين سلالات لبعض الكائنات الحية الدقيقة مثل سلالات بعض الأنواع البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية Antibiotics، مثل البنسلين Penicillin والستربتوميسين Streptomycin والأمبيسيلين Ampecillin وغيرها كثير، حيث تكون الخلية في هذه الحالة مقاومة للتركيزات العالية منها، مقارنة بالخلايا المماثلة غير المُطفرة أي خلايا المزرعة

الأم Original culture. وبذلك تزداد شراسة وعداوة الكائنات الحية الدقيقة للإنسان خصوصاً الممرضة منها التي تنتج سموماً قاتلة Pathogenic microorganisms تفتك ببني البشر وتصيبهم بأمراض خطيرة يصعب مقاومتها وعلاجها بالطرق التقليدية المعتادة.

ونظراً لقلة حدوث طفرات المقاومة في خلايا الكائنات الحية الدقيقة بطريقة ذاتية، فإن ذلك يجعل الأمر صعباً بين الباحثين لدراسة هذا المجال وبحث خصائصه، والتعرف على خلايا جديدة مطفرة في المزرعة أو الوسط الغذائي Medium. وللحصول على خلايا تكونت نتيجة لطفرة المقاومة من مزرعة طبيعية، ودراستها معملياً؛ تُعرَّض المزرعة المراد دراستها لأي عامل يتسبب في حدوث طفرة بخلايا الكائن الحي بطريقة صناعية، فمثلاً قد تعرض الخلايا حديثة التكوين لأشعة إكس X-Rays radiations، أو تعرض للأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet light. بعد ذلك يتم مقارنة الأنشطة البيوكيميائية للخلايا المُطفرة التي عرضت للأشعة بخلايا المزرعة الأم. رغم أنه يمكن ملاحظة وجود خلايا مُطفرة بطريقة تلقائية Spontaneous mutations وتعزل في مزارع مستقلة. وبهذه الطريقة يمكن الحصول على خلايا نقية جديدة تكونت بطفرات المقاومة تدرس في المعمل، وتُجْرَى عليها التحاليل اللازمة لتحديد التراكيب والخصائص الفسيولوجية لخلايا هذا النوع من الكائنات الحية الدقيقة.

(٣,٥,٣) طفرات التنظيم

قد تحدث تغيرات في التراكيب الوراثية للخلية نتيجة انتقال مادة وراثية من خلية تعرف بالخلية المانحة Donor Cell إلى خلية مستقبلة Recipient Cell. ويتكون الكروموسوم الذي يحمل صفات وراثية مشتركة بين خليتين مختلفتين في الكائنات الحية بدائية النواة بثلاث طرق رئيسة هي النقل والاستقطاع والتزاوج. فالنقل Transformation يقصد به انتقال جزء من الحَمض النووي DNA من خلية إلى خلية

أخرى. والاستقطاع Transduction يعني انتقال مادة وراثية محمولة على فيروس من آكلات البكتيريا (بكتيريوفيج Bacteriophage) ومأخوذة من خلية بكتيرية، ويتم نقلها إلى خلية بكتيرية أخرى. أما التزاوج Conjugation فهو انتقال الحَمض النووي DNA من خلية مانحة إلى خلية مستقبلة دون أن يتضمن تكوين أمشاج. ويترتب على انتقال المادة الوراثية من خلية إلى خلية أخرى – بأيٍّ من الطرق الثلاث السابقة – حدوث اتحاد وراثي Genetic recombination للجزء من الحَمض النووي DNA المستقطع من الخلية المانحة مع جينوم الخلية المستقبلة. وتختلف طبيعة وحجم المادة الوراثية الأجنبية في كل من عمليات الاتحاد الوراثي الثلاث سواء أكانت في النقل أم في التزاوج أم في الاستقطاع.

وفي بدائية النواة ينتقل جزء فقط من المادة الوراثية للخلية المعطية أو المانحة Cell Donor إلى الخلية المستقبلة Recipient Cell؛ وبذلك تصبح الخلية المستقبلة عبارة عن لاقحة جزئية Partial zygote، أو قد تسمى شبه لاقحة Merozygote. وتسمى المادة الوراثية للخلية المستقبلة باسم المادة الوراثية الداخلية Endogenote، أما قطع الحَمض النووي DNA التي تصل إلى الخلية المستقبلة من خارجها فتسمى المادة الوراثية الأجنبية Exogenote. علماً بأن انتقال المادة الوراثية والاتحادات الوراثية المترتبة على ذلك تؤدي في الغالب إلى حدوث تغير في العديد من خصائص وصفات الخلية المستقبلة التي حصلت فيها الطفرة Mutation، وتكون قادرة على توريثها. ومن هذه الخصائص مقدرة خلية الكائن الحي على إحداث مرض ومقاومة المضادات الحيوية والصفات البيوكيميائية، وإفراز أنزيمات معينة، وحدوث تغيرات مرتبطة بمظهر الخلية ومظهر المستعمرات المكونة لها في المزرعة أو الوسط الغذائي.

(٣,٦) البلازميدات Plasmids

البلازميد عبارة عن DNA سيتوبلازمي صغير وحلقي يوجد في الكثير من البكتيريا وبعض الفُطريات مثل فُطر الخميرة. وهذه البلازميدات غير ضرورية لتكاثر الخلايا إلا أنها قادرة على تزويد الخلايا بصفات إضافية لاحتوائها على جينات خاصة. ويتضاعف البلازميد داخل الخلية باستقلال تام عن DNA الكروموسوم، إذْ إن البلازميدات الصغيرة تستغل أنزيمات تضاعف الحَمض النووي DNA الخاصة بالخلية العائل من أجل أن تُنتج نسخة من نفسها. بينما نجد أن البلازميدات الكبيرة تحمل جينات تُنتج أنزيمات خاصة قادرة على تضاعف البلازميد. وتعتبر البلازميدات من أفضل أنواع النواقل المستخدمة في الهندسة الوراثية لسهولة استخلاصها والتعامل معها، وتنوعها، وحجمها المناسب، وتضاعفها المستقل، ووجودها بأشكال مختلفة، إضافة إلى سهولة تربية البكتيريا التي تحتوي على بلازميدات، بالإضافة إلى صفات أخرى، مثل احتوائها على جينات مقاومة للمضادات الحيوية، وجينات تُنتج بعض البروتينات التي تُستخدم في قتل بعض أنواع البكتيريا، وجينات تُنتج أنزيمات لها أهمية اقتصادية في صناعة الأجبان. ولذلك تصنف البلازميدات إلى عدة أنواع مختلفة على حساب طبيعة الجينات التي تحملها.

(٣,٧) الاتحادات الوراثية الجديدة في الكائنات الحية الدقيقة

Genetic Recombinations in microorganisms

هناك أهمية كبيرة جداً لاتحاد المورثات (الجينات) في الكائنات الحية الدقيقة بدائية النواة وفي حقيقية النواة. مع أهمية الطفرات Mutations في مورث أو جين Gene

واحد لكائن حي لتكوين أجيال جديدة بين أفراد الكائنات الحية الدقيقة. ولكن عملية الانتخاب الطبيعي أثناء التطور قد تكون خلطة وراثية أو اتحاد وراثي Genetic recombination يؤدي إلى تكوين كروموسوم Chromosome مكون من الحَمض النووي DNA مصدره من خليتين مختلفتين للكائن الحي. ويلاحظ أن مثل هذا الكروموسوم يتكون في الأحياء الدقيقة بدائية النواة بطرق معينة تميزها عن الكائنات الحية حقيقية النواة.

ويتم اندماج حقيقي للأمشاج Gametes المذكرة والمؤنثة في عمليات التكاثر الجنسي Sexual reproduction في الكائنات الحية حقيقية النواة. بينما تنتقل المادة الوراثية من خلية مانحة Donor إلى خلية مستقبلة Recipient ويتكون الكروموسوم الذي يحمل صفات وراثية مشتركة بين خليتين مختلفتين في الكائنات الحية بدائية النواة بثلاث طرق رئيسة. وتتمثل هذه الطرق الثلاث في النقل Transformation والاستقطاع Transduction والتزاوج Conjugation. ففي بدائية النواة ينتقل جزء فقط من المادة الوراثية للخلية المعطية أو المانحة Donor Cell إلى الخلية المستقبلة Recipient Cell وبذلك تصبح الخلية المستقبلة عبارة عن لاقحة جزئية Partial zygote أو قد تسمى شبه لاقحة Merozygote. وتسمى المادة الوراثية للخلية المستقبلة باسم المادة الوراثية الداخلية Endogenote أما قطع الحَمض النووي DNA التي تصل إلى الخلية المستقبلة من خارجها فتسمى المادة الوراثية الأجنبية Exogenote. ويترتب على انتقال المادة الوراثية من خلية إلى خلية أخرى– بأيٍّ من الطرق الثلاث السابقة– حدوث اتحاد وراثي Genetic recombination للجزء من الحَمض النووي DNA المستقطع من الخلية المانحة مع جينوم الخلية المستقبلة. وتختلف طبيعة وحجم المادة الوراثية الأجنبية في كل من عمليات الاتحاد الوراثي الثلاث سواء أكانت في النقل أم في التزاوج أم في الاستقطاع.

إذا كانت المادة الوراثية الأجنبية للخلية المانحة التي وصلت الخلية المستقبلة تحتوي على عدد من القواعد النيتروجينية التي يكون ترتيبها مماثل لتلك القواعد الموجودة أصلاً على المادة الوراثية الداخلية للخلية المستقبلة، فإنه سُرعان ما يتم ازدواجٌ Pairing بين المادتين الوراثيتين الداخلية والأجنبية، ويتكون كروموسوم مشترك ناتج عن اندماج المادة الوراثية الأجنبية- كلها أو جزء منها- مع المادة الوراثية الأصلية في الخلية المستقبلة. أما في حال وجود عوائق تمنع اندماج المادة الوراثية الأجنبية مع المادة الوراثية الداخلية للخلية المستقبلة، مثل عدم توفر ترتيبات متماثلة من القواعد النيتروجينية على كلا المادتين الوراثيتين الأجنبية والداخلية، أو غيرها من الأسباب؛ فإن المادة الوراثية الأجنبية قد تتحلل بالأنزيمات الخلوية، وتعرف هذه الظاهرة باسم ظاهرة الإقصاء Restriction. أو قد تأخذ أحد المسارين الآتيين:

- إذا كانت المادة الوراثية الأجنبية قادرة على أن تضاعف نفسها في الخلية المستقبلة أي تحمل الجينات المسئولة عن التضاعف Replication، فإن هذه المادة الوراثية الأجنبية قد تتضاعف، وتنتج اللاقحة الجزئية في الخلية المستقبلة التي تكون مستعمرة من خلايا ثنائية المجموعة الصبغية ٢N بدرجة جزئية Partial diploid. وفي هذه الحالة يكون هناك عدد محدود فقط من الجينات المزدوجة بينما تكون باقي الجينات مفردة.
- بينما إذا كانت المادة الوراثية الأجنبية غير قادرة على أن تضاعف نفسها أي لا تحمل الجينات المسئولة عن التضاعف، فإن هذه المادة الوراثية الأجنبية قد تستمر في الخلية دون تضاعف، وينتج عن هذه الخلية المستقبلة مستعمرة تكون كل خلاياها Haploid، يعني أحادية المجموعة الصبغية ١N، فيما عدا خلية واحدة فقط تكون مزدوجة المجموعة الصبغية ٢N، وهذه الحالة تعرف باسم نقل المادة الوراثية بالحمل الإجهاضي بالفاج.

والجدير بالذكر أن انتقال المادة الوراثية والاتحادات الوراثية المترتبة على ذلك تؤدي في الغالب إلى حدوث تغير في العديد من خصائص وصفات الخلية المستقبلة، وتورثها إلى أجيالها القادمة عبر سلسلة النسل المتلاحقة. ومن هذه الخصائص مقدرة خلية الكائن الحي على إحداث مرض، ومقاومة المضادات الحيوية، والصفات البيوكيميائية، وإفراز أنزيمات معينة، وحدوث تغيرات مرتبطة بمظهر الخلية ومظهر المستعمرات المكونة لها في المزرعة أو الوسط الغذائي.

(٣,٨) النقل Transformation

النقل أو ما يسمى بالتحول الوراثي Transformation هو أحد الطرق التي تنتقل بها المادة الوراثية من خلية مانحة إلى خلية مستقبلة في الكائنات الحية بدائية النواة. ويقصد بالنقل في الخلية هو انتقال جزء من الحَمض النووي DNA، من خلية مانحة – والتي في الغالب تكون خلية متحللة – إلى خلية مستقبلة. حيث تفرز الخلايا المانحة قطعاً صغيرة مختلفة الأطوال من الحَمض النووي DNA مزدوج السلسلة في الوسط المحيط الذي تعيش فيه، وهذه القطع يحصل لها عملية إدمصاص Adsorption على سطح الخلايا المستقبلة ثم تدخل إلى داخل الخلايا المستقبلة بآلية يكتنفها بعض الغموض حتى الآن. وعند وصول قطع الحَمض النووي DNA إلى داخل الخلية المستقبلة يكون قد تبقى من الـ DNA سلسلة واحدة فقط أما السلسلة الأخرى للحَمض النووي DNA للمادة الوراثية الأجنبية فتكون قد تحللت.

في عام ١٩٢٨م اكتشف العالم جريفث Griffith ظاهرة النقل المباشر للمادة الوراثية الأجنبية Transformation في البكتيريا المسببة لمرض الالتهاب الرئوي Pneumonia التي تعرف باسم *Streptococcus pneumoniae*، حيث يوجد منها مزارع

غير ممرضة خلاياها خشنة Rough cells، أي عديمة العلبة Capsule ومزارع ممرضة خلاياها ناعمة Smooth cells، وذلك لإحاطة خلاياها بالكبسولة. وقد لاحظ جريفت موت الفئران التي حقنت بخلايا خشنة وخلايا ناعمة سبق قتلها بالحرارة نتيجة لإصابتهما بالمرض على الرغم من أن كليهما غير ممرض، فالخشنة حية لكنها غير ممرضة والناعمة ممرضة لكنها ميتة، أي أن كلا النوعين من الخلايا المحقونة لا يسبب الموت إذا حقن منفصلاً عن الآخر. واستنتج من ذلك أن الخلايا الناعمة الممرضة الميتة أنتجت المادة الوراثية التي امتصت بواسطة الخلايا الخشنة غير الممرضة وأصبحت بذلك ممرضة. ثم توالت جهود العلماء، وتم اكتشاف ظاهرة النقل في العديد من الأجناس مثل *Hemophilus Bacillus Neisseria*.

وجد أن العامل المحدد في معدل حدوث النقل المباشر في خلايا مزرعة معينة يعتمد على الحالة الفسيولوجية للخلية المستقبلة، وهي في تغير مستمر أثناء دورة حياة الخلية، ويعبر عنها بالقدرة Competence لدى الخلايا المستقبلة على استضافة قطع الحَمض النووي DNA. فالخلايا القادرة Competent cells التي لديها الاستعداد الفسيولوجي تفرز في الوسط الذي تعيش فيه بروتين معين قد يكون أحد مكونات الغشاء الخلوي أو عاملاً مساعداً أو أنزيماً يحلل أماكن معينة في الغشاء الخلوي ليسمح بدخول الحَمض النووي DNA إلى داخل الخلية. علماً بأن هذا البروتين لو أضيف إلى خلايا غير قادرة لتحولت إلى خلايا قادرة على استقبال قطع المادة الوراثية بالنقل المباشر.

وقد درس الباحثون عملية دخول الحَمض النووي DNA إلى داخل الخلايا البكتيرية الموجبة لصبغة جرام *Streptococcus pneumoniae* والسالبة لصبغة جرام *Hemophilus influenza*، ولوحظ تشابهٌ كبيرٌ بينهما. فقد لوحظ أن الخلايا القادرة

Competent cells التي لديها استعداد في الخلايا المستقبلة لا تأخذ إلاَّ الحَمض النووي الذي تكون قواعده النيتروجينية مشابهة تماماً لترتيب القواعد النيتروجينية على مادتها الوراثية. كما أن قطع الحَمض النووي DNA مزدوج السلسلة تتحلل أنزيمياً أثناء عبورها للغشاء الخلوي إلى سلسلة مفردة، وهذه الخطوة يصحبها استهلاك طاقة تحصل عليها الخلية من تحلل جزيئات ATP الغنية بالطاقة المدخرة. وهذا يحدث في نفس الوقت أثناء اندماج الحَمضين النوويين الداخلي والأجنبي. ويلي دخول المادة الوراثية الأجنبية Exogenote حدوث اندماج سريع مع المادة الوراثية الداخلية Endogenote للخلية المستقبلة.

(٣,٩) الاستقطاع Transduction

الاستقطاع يعني انتقال مادة وراثية محمولة على فيروس من آكلات البكتيريا (بكتيريوفيج Bacteriophage) ومأخوذة من خلية بكتيرية، ويتم نقلها إلى خلية بكتيرية أخرى. أي أن قطعة صغيرة من الحَمض النووي DNA مزدوج السلسلة التي تمثل المادة الوراثية الأجنبية يتم إحضارها من الخلية المانحة إلى الخلية المستقبلة بواسطة فيروس بكتيري. وقد تكون هذه القطعة من المادة الوراثية الأجنبية عبارة عن حَمض نووي DNA بكتيريٍّ فقط أو تكون حَمضاً نووياً DNA بكتيريًّا متصلاً بالحَمض النووي DNA الفيروسي. وقد تكون المادة الوراثية المنقولة ليست مجرد جينٍ واحدٍ مفردٍ، بل قد تكون عبارة عن مجموعة من الجينات المرتبطة، مما يدل على أن الفيروس ينقل جزءاً أو مقطعاً من كروموسوم الخلية المانحة لتحل محل نظيرتها في كروموسوم الخلية المستقبلة. لذا نجد أن الفيروس الـ Phage يحمل قطعة كروموسومية من الخلية البكتيرية المانحة Donor Cell التي كان يعيش بداخلها إلى الخلية البكتيرية التي انتقل إليها، وقد يحدث تزاوج بين

هذه القطعة مع القطعة المناظرة لها من كروموسوم الخلية المستقبلة. وتشترك معها في عملية عبور Crossing over تحدث بين القطعة الكروموسومية المنتقلة والكروموسوم المناظر للخلية المستقبلة Recipient Cell ؛ مما يؤدي إلى حدوث اتحادات وراثية جديدة بالنسبة للجينات الموجودة في المنطقة الكروموسومية المماثلة للقطعة الكروموسومية. والجدير بالذكر أن بداية اكتشاف ظاهرة الاستقطاع كان في بعض أنواع البكتيريا التابعة لجنس السالمونيلا *Salmonella sp.*، حيث إن هناك سلالتين إحداهما ينقصها الحَمض الأميني الميثيونين Methionine، والأخرى ينقصها الحَمض الأميني الثيريونين Threonine. وعند خلط خلايا هاتين السلالتين معاً في وسط غذائي مشترك يفتقر إلى هذين الحَمضين الأمينيين ظهرت بعض الخلايا من السالمونيلا التي تحمل كلا الحَمضين الأمينيين الميثيونين Methionine والثيريونين Threonine، حيث تكونت اتحادات وراثية جديدة، و قد تم تبادل قطع الحَمض النووي DNA بين السلالتين خلال فيروس كان يوجد بخلية إحدى السلالتين ويعرف باسم *Salmonella* Phage P٢٢.

(٣,١٠) التزاوج Conjugation

أدى اكتشاف النقل المباشر للمادة الوراثية إلى اكتشاف اتحاد المورثات. وبدأ البحث عن حدوث عمليات جنسية تشبه ما يحدث في الأحياء ذات النواة الحقيقية. وهذا النوع من اتحاد المورثات يعرف بالتزاوج Conjugation، أو التزاوج شبه الجنسي Parasexual، أو الاقتران Mating، وهو انتقال الحَمض النووي DNA من خلية مانحة إلى خلية مستقبلة دون أن يتضمن تكوين أمشاج، أو تكوين طور ثنائي المجموعة الصبغية ٢N، ويتم عن طريق زوائد جنسية Sex pili، أو من خلال قنطرة تزاوج Conjugation bridge. تتصل الخلية المانحة بالخلية المستقبلة جنسياً بواسطة الزوائد

الجنسية، وفي هذا النوع نجد أن إحدى سلسلتي الحَمض النوويٍ DNA للخلية المعطية تفتح وتبدأ في الانتقال عبر الزائدة الجنسية من الخلية المعطية إلى الخلية المستقبلة. ويلاحظ أن طول القطعة المنقولة من الحَمض النووي DNA الأجنبي تختلف من حالة إلى أخرى، وتعتمد على طول مدة الاتصال الجنسي بين الخليتين. فكلما زادت مدة الاتصال الجنسي بين الخلية المانحة والخلية المستقبلة زاد طول القطعة المنقولة من الحَمض النوويٍ DNA. فقد وجد أن كروموسوم بكتيريا القولون *Escherichia coli* يمكن نقل نسخة كاملة منه إذا استمر الاتصال الجنسي دون انقطاع لمدة ٩٠ دقيقة. وفي عام ١٩٤٦م قام العالمان لدريرج وتاتم Lederberg & Tatum بإجراء تجربة لإثبات حدوث الاتحاد الوراثي في بكتيريا القولون *Escherichia coli* بالتزاوج Conjugation. وقد تمكن هذان العالمان من عزل طفرتين من بكتيريا القولون، الطفرة الأولى كانت تحتاج إلى عاملي نموٍ لابد من توفرهما في الوسط الغذائي حتى تنمو، وهما الحَمض الأميني الميثيونين Methionine وفيتامين Biotin، بينما تحتاج الطفرة الثانية إلى الحَمضين الأمينيين الثيريونين Threonine والليوسين Leucine. وقد خلطا الطفرتين وتم تنميتهما على منبت مشتركٍ بسيط لا يحوي عوامل النمو المحددة، فظهرت مستعمرات تحمل جينات جيدة تستطيع بناء احتياجاتها من هذه المركبات. ولكن كل هذه المحاولات فشلت في إثبات ظاهرة النقل المباشر، وقد ثبت أخيراً خلال الفحص المجهري أن تكوين الاتحاد الوراثي Genetic recombinant في بكتيريا القولون يتطلب اتصالاً مباشر من خلية إلى خلية وهو ما يعرف بالتزاوج Conjugation.

وقد أجرى العلماء تجارب عديدة تثبت حدوث التزاوج بين الخلايا التي يتم الاتصال المباشر بينها فقط، حيث لاحظ الباحثان عدم ظهور نموٍ لخلايا الطفرتين في تجربة يسمح فيها بمرور الإفرازات والمواد الغذائية والأحماض النووية من خلايا أحد

الطفرتين إلى خلايا الطفرة الثانية ولا يسمح باختلاط خلايا الطفرتين معاً، وهذا يعني ضرورة الاتصال المباشر بين خلايا الطفرتين أي حدوث تزاوج جنسي. ولقد تبين للعلماء أن الخلية المذكرة تحمل زوائد وبرية على جدارها تعرف بالزوائد الجنسية Sex pili تمثل الواحدة منها قناة عبور تنتقل خلالها المادة الوراثية من الخلية المذكرة المانحة إلى الخلية المؤنثة المستقبلة، ووجد أن هذه الزوائد الجنسية تساعد الخلية المذكرة على الالتصاق بالخلية المؤنثة لإتمام عملية التزاوج.

(٣,١١) أهمية اتحاد المورثات في بدائية النواة

تشير الدراسات العلمية التطبيقية إلى أن اتحاد المورثات في الكائنات الحية الدقيقة بدائية النواة Genetic recombination Procaryotes يلعب دوراً هاماً في تطور واختلاف الأنواع البكتيرية والكائنات الحية بدائية النواة بشكل عام. فمن بين التقنيات الجينية الحديثة ذات الأهمية الاقتصادية في مجال الوراثة، نقل الجينات من نوعٍ معينٍ من الكائنات الحية الدقيقة إلى نوعٍ آخر، والعمل على دراسة ورصد مقدرة هذه الجينات على التكامل مع جينوم الكائن الحي المنقولة إليه، ومقدرتها على التعبير عن نفسها، وما يتمخض عن هذا من اكتساب الكائن الحي المنقولة إليه الجينات من صفات وراثية جديدة مرغوب فيها، وهذا هو ما يقصد بالنقل أو التحول الوراثي في الكائنات الحية الدقيقة Genetic Transformation in Microorganisms ويدل على أن الكائن الحي -سواء بكتيريا أو غيرها- المنقولة إليه جينات قد اكتسب صفات وراثية قد لا تكون موجودة فيه أصلاً، ولكن ظهرت عليه نتيجة إدخال جينات غريبة عنه لم تكن ضمن تركيبته الوراثية.

ومن صور أهمية اتحاد المورثات في الكائنات الحية الدقيقة بدائية النواة تمكُّنُ العلماء من إدخال الحَمض النووي DNA الخاص بخلايا بكتيريا القولون *Escherichia coli* إلى خلايا نبات Arabidopsis. ومن صور النقل الوراثي في نباتات الحبوب- مثل: القمح والشعير والأرز؛ لزيادة الإنتاج- ما تم من تكوين ما يشبه العقد الجذرية على جذور بادرات نبات الأرز، وذلك من خلال تقنية نقل الجينات الوراثية المسئولة عن تثبيت النيتروجين الجوي من بكتيريا العقد الجذرية جنس *Rhizobium spp.* إلى نباتات الحبوب. وبذلك تتضاعف إنتاجية هذه المحاصيل الزراعية الهامة في حياة الإنسان مع زيادة إمدادها بالنيتروجين كأحد أهم احتياجاتها الغذائية، وذلك من خلال العقد الجذرية التي لم تكن تعرف حتى وقت قريب إلا في البقوليات فقط.

لقد تشجع علماء تقنيات الهندسة الوراثية على دراسة الطرق المختلفة التي بها يمكن إحداث اتحاد وراثي في البروتوبلاست، وذلك نظراً لخلو البروتوبلاست من الجدر الخلوية ولمقدرته على دمج البلاستيدات الخضراء والنوى والكائنات الحية الدقيقة. فمن المعروف أن من بين إنجازات الهندسة الوراثية نقل جينوم خلية بكتيرية إلى بروتوبلاست خلية نباتية، مثل ما ذكر سابقاً عندما حاول العلماء نقل الجينات الوراثية المسئولة عن تثبيت النيتروجين الجوي من جينوم الخلية البكتيرية من جنس *Rhizobium spp.* المثبتة للنيتروجين الجوي إلى بروتوبلاست الخلايا النباتية لبعض النباتات من الحبوب وحيدة الفلقة.

وبعد تطور التقنيات المتعلقة بالتحول الوراثي، ومعرفة كيفية تكامل جينوم الفيروس مع جينوم خلية العائل، تم تحديث تقنية نقل جينوم خلية بكتيرية لخلية نبات راقٍ، حيث استخدم العلماء لذلك فيروسات كعوامل مساعدة Vectors في عملية نقل

الجينات، ومن ثم إحداث اتحادٍ وراثيٍّ recombination. وبذلك حدثت نقلة نوعية كبيرة في هذا المجال على نطاق واسع في جوانب تطبيقية زراعية، وصناعية، وطبية.

(٣,١٢) أهمية اتحاد المورثات في حقيقية النواة

إن الحَمض النوويَّ DNA في كروموسومات الكائنات الحية الدقيقة حقيقية النواة هو عبارة عن جزيء واحد مزدوج السلسلة في شكل حلزوني ملتفٍّ على بعضه بطريقة خاصة، وعندما يتضاعف الكروموسوم فإنه يتحول إلى زوج من الكروماتيدات Chromatides، وكل كروماتيدة تحتوي على جزيء واحد من الحَمض النووي DNA مزدوج السلسلة، كما أن آلية حدوث العبور Crossing-over بين الكروماتيدات المتجاورة هي مماثلة لما يحدث في بدائية النواة. وهناك دورة حياة جنسية لدى الكائنات الحية الدقيقة حقيقية النواة Eucaryotic ويلاحظ فيها تكون الاتحاد الوراثي أثناء عملية الانقسام الاختزالي Meiotic recombination، وكذلك أثناء عملية الانقسام غير المباشر Mitotic recombination، حيث يحدث اتحاد وراثي بين الكروموسومات، وينتهي بتكوين أربع خلايا يحتوي كل منها على نصف عدد الكروموسومات مع حدوث تبادل وراثي بين بعض الكروماتيدات.

فالاتحاد الوراثي في الكائنات الحية الدقيقة حقيقية النواة يتم بطريقتين، إما نتيجة تجمع عدد من الكروموسومات الأبوية المعينة مع بعضها أو بحدوث تبادل بين أجزاء من الكروموسومات ذات الكروماتيدات المتشابهة من خلال ما يعرف بالعبور Crossing-over الوراثي. ويعتمد ظهور الصفات في أي خلية ناتجة عن الانقسام على مواقع الصفات الممنوحة، وهل هي على نفس الكروموسوم أم على كروموسومين مختلفين. فكثير من الأحياء الدقيقة ذات النواة الحقيقية ثنائية الصبغيات Diploid تتكاثر بالانقسام

غير المباشر Mitosis، وهذه الخلايا ثنائية الصبغيات قد تنقسم بالانقسام الاختزالي Meiosis كما يحدث لدى فطريات الخمائر المتجرثمة Sporulating yeasts ، وقد تستمر في الانقسام غير المباشر بصفة مستمرة.

ومن خلال تحديد المسافات والقياسات لحدوث الاتحادات الوراثية للعديد من أزواج الجينات الوراثية فإنه يمكن عادة رسم خريطة وراثية لكل كروموسوم. وقد تمكن علماء الوراثة من رسم خرائط وراثية للعديد من الفطريات والطحالب مما يساعد على فهم خصائصها وصفاتها وتوظيفها في خدمة الإنسان، مثل فطر الأسبرجلس *Aspergillus nidulans*، وفطر *Neurospora crassa*، وفطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*، وطحلب الكلاميدوموناس *Chlamydomonas reinhardi*.

ولقد تمكن علماء الهندسة الوراثية من استخدام الخرائط الوراثية لعدد من الكائنات الحية الدقيقة ووحدات من فيروسات معينة، وإدخال جينات إلى خلايا عوائل نباتية. كما استخدم بروتوبلاست بعض الفطريات كأحد الطرق الحديثة لإدخال الجينات المرغوب فيها في بروتوبلاست الخلايا النباتية فقد تم بنجاح دمج بروتوبلاست نبات *Catharanthus roseus* مع بروتوبلاست أحد الفطريات، وذلك كمحاولة لنقل صفة تكوين بعض المركبات التي يكوِّنها الفطر إلى بروتوبلاست خلايا النبات ، وذلك في عملية نقل الجينات ومن ثم إحداث اتحاد جديد وراثيٍّ Genetic recombination. ولقد أجري العديد من التجارب التطبيقية على أنواع متباينة من الكائنات الحية الدقيقة، كمحاولات من قبل العلماء لإدخال جينات محددة تكون مسئولة عن العديد من الصفات الهامة والضرورية المرغوب فيها. وبذلك حدثت نقلة نوعية كبيرة في هذا المجال على نطاق واسع في جوانب تطبيقية زراعية وصناعية وطبية ، فتم إنتاج مركبات عضوية وبروتينات ومحاصيل زراعية عالية المقاومة للأمراض وللمبيدات وللحشائش وللحشرات ، وإنتاج أنزيمات وهرمونات وأحماض عضوية هامة ومضادات حيوية

ساعدت على ازدهار الصناعات الطبية، ورفع مستوى الصحة العامة للإنسان، وزيادة الإنتاج الغذائي.

(٣,١٣) الهندسة الوراثية Genetic Engineering

إن الهندسة الوراثية تُعنَى بتوجيه إنتاج الخلايا من خلال التحكم بالجينات الحاملة للصفات الوراثية. وتعتبر الهندسة الوراثية أحد الجوانب التطبيقية لعلم الوراثة. ويقصد بالهندسة الوراثية تغيير ترتيب الجينات على الخريطة الجينية للكائن الحي، وذلك عن طريق إضافة جين أو مجموعة من الجينات أو تعطيلها (تثبيطها)؛ لإنتاج صفات مرغوب فيها، أو استبعاد صفات غير مرغوب فيها. أدت الهندسة الوراثية إلى الكشف عن الكثير من المعلومات التي تتعلق بالجينات، وكيفية عملها، وطرق استنساخها. وأول تطبيق عملي للهندسة الوراثية هو عزل الجينات التي تُنتج هرمون النمو، وهرمون الأنسولين في الإنسان، ثم عمل استنساخ لهما، ثم تُدمج هذه الجينات في البكتيريا، وتُنمى فيها، ومن ثم تتحول هذه البكتيريا إلى مصانع لإنتاج كميات كبيرة من هذه الهرمونات، وذلك بفضل التقدم العلمي في مجال الهندسة الوراثية.

ومن الفوائد الكبيرة للهندسة الوراثية في مجال الطب استخدامها في تشخيص بعض الأمراض الوراثية قبل الولادة أو بعدها، وإنتاج العديد من المضادات الحيوية كالبنسلين، والستربتومايسين، والعديد من الهرمونات، مثل هرمون الأنسولين، وهرمون النمو، وكذلك الأنزيمات، واللقاحات. وفي مجال الإنتاج الزراعي تُستخدم الهندسة الوراثية في إنتاج نباتات مقاومة للفيروسات، ونباتات مقاومة للمبيدات الكيميائية من خلال عزل المورث الموجود في البكتيريا المقاوم للمبيدات، ثم زرعها في أنسجة النبات. وكذلك في مجال الإنتاج الحيواني تُستخدم الهندسة الوراثية في زيادة

إنتاج البيض، والحليب، واللحوم؛ وفي إنتاج حيوانات مقاومة للأمراض، وحيوانات أخرى قادرة على تحمل الظروف البيئية القاسية التي قد تواجهها. بالإضافة إلى أن الهندسة الوراثية لها دور بارز في المجال الأمني حيث تستخدم في حالات إثبات الأبوة، والكشف عن المجرمين والجرائم باستخدام بصمة الحامض النووي DNA-Fingerprint.

والجدير بالذكر أن هناك أربع خطوات رئيسة عامة مستخدمة في الهندسة الوراثية يمكن إجمالها في الآتي:

- استخلاص الحامض النووي DNA الذي يحتوي على الجين المطلوب وتنقيته من البروتينات.
- تقطيع الحامض النووي DNA الذي تم عزله إلى عدد من القطع المختلفة باستخدام أنزيمات القطع Restriction enzymes. وتقوم هذه الأنزيمات بتقطيع الحامض النووي DNA في مواقع معينة، أي عند تتابعات معينة للقواعد النيتروجينية على جزيء DNA، وذلك على حسب نوع الأنزيم.
- عزل الجين المطلوب وربطه مع ناقل مناسب باستخدام أنزيمات الربط (اللحام) Ligases. وتُستخدم هذه النواقل كوسائط لنقل جين معين إلى خلايا جديدة لإظهار صفة جديدة. كما تتميز هذه النواقل بقدرتها على التضاعف داخل الخلايا الجديدة. وأفضل النواقل المستخدمة في الهندسة الوراثية هي البلازميدات Plasmids التي أشرت إليها سابقاً.
- مضاعفة البلازميد الهجين، وذلك عن طريق إدخاله إلى خلايا البكتيريا المختارة (كثير من الدراسات تجرى على بكتيريا القولون E. coli) ثم عمل زراعة لهذه البكتيريا حيث تتضاعف بسرعة ويزداد عددها، وبذلك تتضاعف البلازميدات أيضاً، وينتج عن ذلك نسخ عديدة من الجين أي تتم في هذه المرحلة عملية استنساخ Cloning

للجينات، وهذه هي الطريقة التي يتم بواسطتها إنتاج بعض الهرمونات، مثل هرمون الأنسولين، وهرمون النمو، وغيرها.

من التطبيقات الحديثة في مجال الهندسة الوراثية إنتاج الكائنات الحية المعدلة وراثياً أي الهجينة جينياً، وهي الكائنات الحية التي تحتوي المادة الوراثية DNA فيها على جزء من DNA خاص بكائن آخر. والغرض من الحصول على الكائنات الحية المعدلة وراثياً هو تحسين صفاتها الوراثية. وقد تمكن العلماء في السنوات الماضية من غرس جين يقوم بتكوين هرمون النمو مأخوذ من الإنسان، وزراعته في أجنة الماشية، ومن ثم سوف يؤدي هرمون النمو إلى زيادة إنتاج اللحوم، وزيادة إنتاج الحليب في حيوانات الحليب.

كما يمكن الآن بعدد من التقنيات الحديثة إكثار المواد النباتية في أنابيب زجاجية لحمايتها من الأمراض الفتاكة التي تهدد المحاصيل، وإنتاج كواشف حساسة لتشخيص أمراض النباتات، والحيوانات، والأسماك عبر تقنية زراعة الأنسجة والخلايا وما يعرف بالأحياء الجزيئية Molecular Biology التي استطاع العلماء من خلالها التعرف على التراكيب الوراثية لأي كائن حي بأكملها، ومن ثم اختيار النباتات والحيوانات ذات الصفات المفضلة على المستوى الجزيئي. كما تشتمل التقنية الحيوية Biotechnology على طائفة واسعة من الأدوات؛ لإدخال أو حذف جينٍ أو جينات معينة بغية إنتاج نباتات وحيوانات وكائنات حية دقيقة ذات تركيبات من الجينات ما كان لها أن تتشكل لولا إرادة الله سبحانه وتعالى الذي خلق كل شيء ودلَّ بعض الناس على جزء يسير جداً من أسرار هذه المخلوقات الحية ﴿ يَسْـَٔلُونَكَ عَنِ ٱلرُّوحِ ۖ قُلِ ٱلرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّى وَمَآ أُوتِيتُم مِّنَ ٱلْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا ﴾ (سورة الإسراء، الآية ٨٥).

وبشكل عام يمكن القول بأن تطبيقات الهندسة الوراثية سلاح ذو حدين. فبالإضافة إلى فوائدها الجمة في زيادة الإنتاج في قطاعات الزراعة وسد الاحتياج المتزايد للغذاء جراء التنامي الهائل لأعداد السكان. فإن كثيراً من الأطعمة المحسنة جينياً تحتوي على جينات مشفرة لزيادة مقاومة المبيدات الحيوية والحشرية الشائعة، ولكن وجودها بالنباتات التي تستخدم كأطعمة يشكل مخاطر صحية قوية؛ لأنها تستطيع الوصول والانتقال إلى خلايا جسم الإنسان والحيوان بما يجعلها عند المرض تقاوم مفعول المضادات الحيوية، وتصبح هذه المضادات الحيوية عديمة الفائدة في مقاومة الجراثيم.

(٣,١٣,١) بصمة الحامض النووي DNA-Fingerprint

لقد أثبت العلم الحديث أن الله سبحانه وتعالى قد وضع في جميع الكائنات الحية شفرة وراثية (ترتيب للقواعد النيتروجينية G,C,T,A) في الحَمض النووي DNA تتحكم في خصائص وصفات هذا الكائن الحي وتميزه عن غيره. ويختلف ترتيب هذه القواعد النيتروجينية من كائن حي لآخر، أي أن لكل كائن حي ترتيباً معيناً يتميز به عن غيره من الكائنات الحية الأخرى تُسمى ببصمة الـ DNA أو البصمة الوراثية. وهي تماثل أشكال الخطوط والأخاديد التي تكوِّن بصمة الأصبع في يد الإنسان، وتختلف من شخص لآخر. وحالياً أصبحت البصمة الوراثية تستخدم بدلاً من بصمة اليد في التعرف على الأشخاص في الجوانب الأمنية. وذلك من خلال أخذ عينة دم، أو شعر، أو بشرة، أو حيوانات منوية، أو أي خلية للشخص للتعرف على بصمته الوراثة بتحليل حَمضه النووي DNA. ثم تقطيعه بواسطة أنزيمات قطع معينة وفصل قطع DNA المتكونة بعضها عن بعض باستخدام جهاز التفريد الكهربائي الهلامي Gel Electrophoresis الذي تتحرك فيه قطع الـ DNA من قطبه السالب إلى القطب الموجب، ويمكن مشاهدة هذه القطع (الحزم Bands) عند صبغ هلام الأجاروز بصبغة خاصة، وتهاجر القطع الصغيرة بشكل أسرع من القطع الكبيرة. ثم يتم تصوير هذه القطع

بالتصوير الإشعاعي الذاتي Autoradiography. وبهذه الطريقة التي تستغرق ستة أيام تشاهد مجموعة من الحزم التي تمثل قطع الـ DNA يطلق عليها بصمة DNA. ويتم مطابقتها مع DNA الشخص المراد فحصه.

(٣,١٣,٢) الجينوم Genome

يقصد بالجينوم رسم خريطة جينية تشمل جميع الجينات الكامنة في خلايا جسم الإنسان. ويعتقد العلماء أن رسم هذه الخريطة الجينية ستساعدهم على التعرف على الجينات المختصة بالأمراض المختلفة التي تصيب الإنسان، مثل السرطان، والسكر، والأمراض العقلية، وأمراض القلب والأوعية الدموية، وغيرها كثير، فخلال العشرين سنة الماضية نجد أنه تم تصنيع أكثر من مائة دواء مختلف كعلاج للعديد من الأمراض الناشئة عن خلل في الجينات التي تصل إلى أربعة آلاف مرض، وذلك بعد أن تمكن العلماء من كشف ٢٠ ٪ من الشريط الوراثي. ويقدر عدد الجينات البشرية بحوالي ٨٠ – ١٠٠ ألف تحتوي على ثلاثة بلايين زوج من القواعد النيتروجينية في خلايا جسم الإنسان، ولقد عمل العلماء جاهدين للحصول على خريطة تفصيلية دقيقة جداً لتحديد تتابع القواعد النيتروجينية. وهناك اختلافات فردية في الجينوم بين شخصٍ وآخر قد تؤثر بشكل كبير على تقبل الفرد للمؤثرات البيئية الضارة، مثل البكتيريا الممرضة، والفيروسات، والسموم، والكيماويات، والأدوية. وقد وجد العلماء بعد توظيف التقنية الحيوية المتقدمة في السنوات الأخيرة أن أكثر الاختلافات الفردية شيوعاً هي ما يسمى بالاختلاف النووي الفردي Single nucleotide polymorphisms (SNP)، ويتكرر هذا الاختلاف مرة واحدة كل ١٠٠– ٣٠٠ قاعدة نيتروجينية. ولتحقيق ذلك تمكن العلماء من رسم خرائط وراثية للبكتيريا، مثل القولون E. coli، وذبابة الفاكهة Drosophilae، وبهذه الدراسات المقارنة يمكن للعلماء أن يصلوا إلى معلومات هامة عن تركيب وتنوع الكائنات الحية، والعمليات

البيوكيميائية، والوظائف الفسيولوجية المتنوعة، والوراثة الجزيئية. يقول أحد مسئولو مركز أبحاث الجينات Genes research center في مشروع الشفرة الوراثية المشرفة على مشروع الجينوم Genome project human : "إن اكتشاف الشريط الوراثي وخصائص كل جين في مشروع الجينوم هو مقابل لاكتشاف المجهر الإلكتروني، وكما غير المجهر الإلكتروني مفهومنا الطبي فسوف يقوم هذا الكشف بتغيير وإحداث ثورة طبية لعدة قرون قادمة".

(٣,١٣,٣) البروتيوم Proteome

جاء مشروع البروتيوم بعد الآفاق العلمية التي فتحها الجينوم أمام الباحثين وقادهم إلى ذلك التطبيقات المتطورة للتقنية الحيوية، وبعد أن تأكد العلماء أنه لا يكفي معرفة الجين المسؤول عن حفز الخلايا الحية لإنتاج أنواع بعينها من البروتينات، بل ينبغي معرفة حالة الخلايا أثناء الصحة أو المرض. ويقصد بالبروتيوم مجموع البروتينات التي تفرزها خلايا الجسم خلال المراحل المختلفة من حياتها. وإذا كان الجينوم من التعقيد بحيث ينطوي على ملايين العمليات الكيميائية، فإن البروتيوم يحتوي على معلومات هائلة جداً تزيد ألف مرة عما يحمله الجينوم. وقد ساعد علم التقنية الحيوية الطبية Medical biotechnology مصانع الأدوية في توظيف نتائج البروتيوم، مما دعا إلى استحداث أسلوب جديد في صناعة الأدوية، وسوف تتحول معظم الأدوية في المستقبل القريب من هذا القرن إلى أدوية مصنعة بالهندسة الوراثية مع التركيز بشكل أساس على الطب الوقائي.

(٣,١٤) تطبيقات الهندسة الوراثية

يمكن القول بأن هذا القرن – بفضل الله سبحانه وتعالى، ثم التقدم التقني غير المسبوق – شهد نقلةً نوعيةً وتطوراً هائلاً في مجال علم الوراثة عموماً، والهندسة

الوراثية خصوصاً؛ مما أدى إلى تطبيقات متنوعة شملت جميع جوانب الحياة. فقد طبقت الهندسة الوراثية في مجالات عديدة مهمة مثل: إنتاج الأنسولين البكتيري بدلاً من الأنسولين المستخلص من الخنازير والأبقار، والمعالجة بالجينات Gene therapy مثل إضافة جين إنتاج الأنسولين في الكروموسوم البشري، وعلاج بعض أمراض نقص المناعة، وإنتاج بروتينات هامة بكميات كبيرة وتكلفة أقل، وبروتينات عالية القيمة الحيوية كغذاء للماشية والدواجن، وإنتاج بروتين الأنترفيرون البشري، وهو عبارة عن جليكو بروتين Glycoprotein فعّال ضد الأمراض الفيروسية، وإنتاج مواد كيميائية دوائية ومضادات حيوية بتكلفة أقل ومعدل إنتاج عالٍ، بالإضافة إلى أمصال تركيبية خاصة، مثل مصل فيروس التهاب الكبد الوبائي B، وأمصال للأنفلونزا. وقد تم استخلاص هرمون النمو بكميات تجارية لمعالجة التقزم البشري وبطء النمو، وهرمون اللبن في الماشية لزيادة إنتاج الحليب. كما ساعدت الهندسة الوراثية على التشخيص المبكر لبعض الأمراض الوراثية، مثل الأنيميا المنجلية، والبول الفينولي.

وتمكّن العلماء من خلال الهندسة الوراثية من تهجين بكتيريا بحرية قادرة على القضاء على التلوث بالبترول في مياه البحار والشواطئ الساحلية، وعدد من الأحياء الدقيقة المحللة Decomposers لتقوم بمعالجة مياه الصرف الصحي؛ وذلك للتخلص من المواد الضارة، وتقليل خطورتها على الإنسان، والتجمعات السكانية. وفي مجال الزراعة تم توظيف الهندسة الوراثية لإنتاج محاصيل مقاومة للأمراض الفيروسية، والبكتيرية، والفُطرية، وإنتاج نباتات قطن مقاومة لدودة ورق القطن، وتقليل صفة المقاومة لمبيدات الحشائش على النباتات الاقتصادية لتأثيراتها السامة والضارة.